
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIANCARLO FAVA, EUGENIO CROTTI

Effetto di un detersivo commerciale e di uno dei suoi componenti, LAS, sulla produzione di nauplii in *Tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida) in condizioni di alto e basso affollamento

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 66 (1979), n.3, p. 223–231.
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1979_8_66_3_223_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia. — *Effetto di un detersivo commerciale e di uno dei suoi componenti, LAS, sulla produzione di nauplii in Tisbe holothuriae (Copepoda, Harpacticoida) in condizioni di alto e basso affollamento.* Nota di GIANCARLO FAVA e EUGENIO CROTTI, presentata (*) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — Two concentrations of the domestic detergent, 2 and 4 mg/l, and one of LAS, 0.8 mg/l, which corresponds roughly to the amount contained in 4 mg of the commercial powder, were tested. Males and females were put into test solutions immediately after having reached sexual maturity, and left there until the first egg sac appeared in females, that is for two to six days. Ovigerous females were then isolated in water without detergent and the number of nauplii produced by the first egg sac was counted. The effect of these detergents depends on the crowding level. When 1 male and 1 female were put in one vessel with 20 ml of water, the presence of the pollutant induced a reduction of the mean number of nauplii, which did not occur in the controls. When 8 males and 8 females were put in the same volume of water, the pollutants induced an increase of the number of nauplii.

It is suggested that these apparently paradoxical results depend on two different actions of the detergents. First, they may affect the exchange of gases, so that the following reduced oxygenation may damage the developing eggs. On the other hand, these pollutants appear to remove the mechanism that enables the animals to perceive and to react to crowding. This agrees with a previous hypothesis that the above mechanism might depend on the production by *Tisbe* of some specific chemical, so far unidentified. Thus, the detergent may interact with such substances and/or damage the chemoreceptors of the animals.

In all cases LAS appears to be responsible for the phenomena observed.

INTRODUZIONE

Un precedente studio sugli effetti che subiscono alcuni parametri biologici in tre specie del genere *Tisbe* esposte in diversi stadi del ciclo vitale a differenti dosi di un detersivo commerciale di largo consumo (Fava e Dalla Venezia, 1976), ha evidenziato la possibilità che piccole modifiche, indotte da dosi subletali, inneschino una serie di processi che, almeno dopo un certo numero di generazioni, potrebbero provocare dei danni a carico delle popolazioni. Ciò principalmente attraverso la depressione di alcuni dei parametri che concorrono nel determinare il potenziale riproduttivo della specie. L'interesse di queste indicazioni risiede principalmente nel fatto che le concentrazioni dimostrate capaci di interagire col normale sviluppo di questi organismi sono relativamente modeste e comunque del medesimo ordine di grandezza di quelle riscontrate in alcuni ambienti naturali.

(*) Nella seduta del 10 marzo 1979.

In particolare, in *T. bulbisetosa*, il numero di uova prodotte appariva influenzato dalla presenza di detersivo, risultando paradossalmente più elevato in condizioni di inquinamento, anche se tale effetto non sembrava riflettersi sulla produzione di nauplii.

Recentemente Fava e Crotti (in preparazione) hanno potuto verificare come il grado di affollamento, cui sono sottoposti individui di *T. holothuriae* nel breve periodo del ciclo vitale che va dalla maturità sessuale alla comparsa del primo sacco ovigero, influisca sensibilmente sul numero di nauplii prodotto; viene indicata in tal modo l'esistenza di forti meccanismi a feed-back che, almeno in talune condizioni, possono operare per impedire l'eccessivo accrescersi della popolazione. Osservazioni in ambiente lagunare hanno permesso di rilevare come le popolazioni naturali di *Tisbe* possano presentare delle fluttuazioni di densità spesso regolari (Fava, dati non pubblicati), suggerendo che i meccanismi che regolano l'affollamento possono avere una certa importanza anche nell'ambiente naturale.

In quest'ultimo i detersivi vengono immessi con un ritmo pressochè costante e sono presenti in concentrazioni non trascurabili. Nelle acque costiere di alcune zone dell'Adriatico settentrionale è stata rilevata la presenza di detersivi anionici in quasi tutte le stazioni esaminate, per lo più in quantità superiore a 0,2 mg/l con punte massime di 3,8 mg/l nel centro storico di Venezia (Majori *et al.*, 1967; 1969 *a, b*). Cossa (1973), in uno studio su cinque zone del litorale francese, riferisce valori massimi di poco superiori a 0,1 mg/l per l'estuario della Senna.

I dati sperimentali e le osservazioni cui si è fatto cenno hanno suggerito l'opportunità di verificare se i detersivi comunemente usati interferiscano con i meccanismi che, regolando la fertilità delle popolazioni, hanno un ruolo importante nel controllarne le dimensioni.

Per questa prima indagine ci si è limitati a considerare un solo detersivo, il medesimo usato in precedenza, ed uno solo dei suoi principali componenti, il dodecilbenzene sulfonato di sodio, LAS, saggiandone gli effetti su di una sola specie, *T. holothuriae*, a concentrazioni non molto lontane da quelle riferite per l'ambiente naturale.

MATERIALI E METODI

Gli animali utilizzati sono stati pescati nella laguna di Venezia, presso la località Malamocco, nel 1971, e mantenuti per tutto il tempo in camera termostatica a $18^{\circ}\text{C} \pm 0,5$, in acqua di mare con salinità tra il 34 ed il 36‰. Gli esperimenti sono stati condotti alle medesime condizioni di temperatura e salinità. Si sono sempre usate capsule di vetro neutro contenenti 20 ml di acqua ed un pezzetto di *Ulva*. Come alimento si sono forniti, ad intervalli regolari, dei frammenti di frumento bollito in quantità approssimativamente proporzionale al numero di individui introdotto in ogni capsula. In tutti i casi, l'alimento è stato somministrato in eccesso, così che non potesse costituire un fattore limitante.

Le diverse concentrazioni di inquinante sono state ottenute partendo da una soluzione madre con una concentrazione di 500 mg per litro, opportunamente diluita. Per il detersivo commerciale si sono saggiate le concentrazioni di 2 e 4 mg/l. Per il LAS, dodecilbenzene

sulfonato di sodio fornito dalla ICN-K&K, LOT-14070-A, purezza 80%, si è provata solo la concentrazione di 0,8 mg/l; questa corrisponde approssimativamente alla quantità di LAS presente in 4 mg di detersivo commerciale.

Si sono saggiate due condizioni di affollamento: minimo, con una coppia di individui per capsula, e massimo, con otto coppie di individui per capsula.

Per ogni esperimento si sono prelevate 50-70 femmine ovigere dalle popolazioni standard, ed isolate singolarmente in capsule con 20 ml di acqua di mare. Dopo la schiusa delle uova di un sacco, le femmine sono state allontanate dalle capsule. Quando queste discendenze raggiungevano il quarto o quinto stadio di copepodite, dopo circa una settimana dalla nascita e cioè al raggiungimento della maturità sessuale, maschi e femmine presi dalle varie discendenze venivano distribuiti casualmente nelle capsule di controllo ed in quelle con l'inquinante, in numero di un maschio e di una femmina per l'affollamento minimo, e di otto maschi e di otto femmine per l'affollamento massimo. Inoltre, nella distribuzione degli individui si è avuta cura di evitare che in una capsula dove veniva introdotta una data femmina fosse immesso qualcuno dei suoi fratelli maschi, così da escludere qualsiasi possibilità di incrocio.

Dal momento della formazione delle coppie, le capsule venivano controllate quotidianamente per sei giorni. Tutte le femmine ovigere rinvenute sono state isolate singolarmente in capsule preparate con acqua non inquinata affinché potessero deporre i nauplii del primo sacco: questi ultimi sono stati sempre contati poche ore dopo la nascita. Al sesto giorno, le femmine non ancora ovigere sono state scartate. Per motivi pratici, si è dovuto limitare il conteggio ai soli nauplii schiusi dal primo sacco ovigero.

Le tre serie di esperimenti sono state effettuate a circa un mese di intervallo una dall'altra. In tutte, si sono preparate 5 capsule per l'affollamento massimo e 40 capsule per l'affollamento minimo, sia per i controlli che per le varie concentrazioni di inquinante; ogni singola prova è stata quindi effettuata su 40 coppie.

RISULTATI

I serie di esperimenti. I risultati relativi a queste prime prove sono riassunti in Tabella I. Per poter applicare l'analisi della varianza «gerarchica» (in modo da verificare l'eventuale presenza di una variabilità tra capsule, rilevabile per il massimo affollamento) e l'analisi della varianza fattoriale 2×2 , evitando le notevoli complicazioni dovute alle diversità del numero di repliche, si è eseguita la seguente procedura. *Affollamento massimo:* poiché il numero minimo di ovigere rinvenuto per capsula è stato di sei, si è provveduto, mediante l'uso di una tavola di numeri casuali, ad eliminare i dati relativi alle femmine eccedenti (una o due) in quelle capsule che avevano fornito 7 o 8 femmine ovigere. In tal modo si sono considerati 6 conteggi per tutte le capsule, per un totale di 30. *Affollamento minimo:* poiché si sono ottenute sempre più di 30 femmine ovigere, si sono dovuti eliminare i conteggi eccedenti, sempre con l'uso di numeri casuali. Si sono così considerate complessivamente 30 coppie per entrambi i livelli di affollamento.

Questa procedura, che non influenza le medie e le varianze, rendendo uguali le dimensioni dei campioni permette di semplificare notevolmente i calcoli, con un perdita trascurabile di informazione.

La successiva analisi statistica non ha portato a valori significativi per le differenze tra capsule; è risultato invece significativo l'effetto del detersivo ad entrambi gli affollamenti, considerati separatamente (Tabella II). L'analisi

fattoriale (Tabella III) ha confermato la significatività della differenza dovuta al grado di affollamento. Inoltre è risultata altamente significativa l'interazione. Il senso di questo risultato appare evidente: l'effetto del detersivo è, cioè, opposto nei due livelli di affollamento, provocando una diminuzione del numero di nauplii con una coppia per capsula, ed un aumento con otto coppie per capsula (Tabella I). È per tale ragione che il trattamento globale fornisce un valore non significativo per l'azione del detersivo: l'effetto viene, in altri termini, mascherato dall'inversione della risposta, pur essendo significativo, come si è visto più sopra, all'interno di ciascun affollamento preso separatamente.

TABELLA I.

Numero medio di nauplii per sacco ai due diversi affollamenti, con o senza detersivo, nelle tre serie di esperimenti.

N = 30 per tutte le medie.

	Controlli		LAS		detersivo commerciale			
			0,8 mg/l		2 mg/l		4 mg/l	
	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>
<i>I serie</i>								
1 coppia	66,2	8,22	—	—	60,5	8,89	—	—
8 coppie . . .	45,9	9,05	—	—	56,8	9,91	—	—
<i>II serie</i>								
1 coppia	71,4	9,07	—	—	60,9	11,71	60,5	10,68
8 coppie . . .	40,9	7,97	—	—	48,3	6,42	53,6	8,09
<i>III serie</i>								
1 coppia	69,7	7,58	66,4	6,09	—	—	68,1	7,50
8 coppie . . .	47,1	7,58	55,7	8,57	—	—	58,6	7,69

II serie. Si è ripetuto l'esperimento precedente, con la sola aggiunta della concentrazione di 4 mg/l. I dati sono stati trattati come in precedenza: si hanno cioè trenta misure per ogni affollamento e per ogni concentrazione; per ciascuna delle cinque capsule usate per il massimo affollamento, sono stati considerati i nauplii prodotti da sei femmine. I risultati, rielaborati, sono riassunti nella Tabella I. L'analisi statistica ha dato i medesimi risultati ottenuti nella prova precedente. Non si è avuta una significativa differenza

tra capsule, e il detersivo influenza significativamente il numero di nauplii prodotti per femmina (Tabella II). Il numero di nauplii prodotti è significativamente superiore all'affollamento minimo, e l'interazione è ancora significativa (Tabella III). Cioè, anche in queste prove, la presenza di detersivo causa una diminuzione del numero di nauplii ad affollamento minimo, mentre ne determina un aumento ad affollamento massimo. Un'ulteriore analisi dei dati, applicando il test di Student - Newmann - Keuls, sembra indicare che con l'affollamento minimo, il detersivo agirebbe ugualmente sia alla concentrazione di 2 che di 4 mg/l, mentre con otto coppie per capsula, il suo effetto aumenterebbe con l'aumentare della concentrazione ($P < 0,05$).

TABELLA II.

Analisi della varianza per i due livelli di affollamento, nelle tre serie di esperimenti.

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Variazione	I serie		II serie		III serie	
	gl	QM	gl	QM	gl	QM
<i>I coppia</i>						
Detersivo	1	487,3 *	2	1139,0 **	2	83,4 ns
Capsule	—	—	—	—	—	—
Errore	58	73,2	87	111,1	87	50,2
<i>8 coppie</i>						
Detersivo	1	1782,1 **	2	1228,1 ***	2	1063,5 **
Capsule	8	142,9 ns	12	22,9 ns	12	89,7 ns
Errore	50	81,6	75	62,2	75	59,2

III serie. Gli esperimenti sono stati eseguiti come in precedenza. Tuttavia in queste ultime prove si è saggiato l'effetto della sola concentrazione di 4 mg/l per il detersivo commerciale e di 0,8 mg/l per il LAS, cioè una concentrazione approssimativamente corrispondente alla quantità di LAS presente in 4 mg di prodotto commerciale (Tabella I).

Per l'affollamento minimo, la diminuzione del numero medio di nauplii per gli animali esposti ai due tipi di inquinante non è risultata significativa, contrariamente a quanto verificatosi nelle prime due serie (Tabella II). Con otto coppie per capsula, invece, si è ottenuta una piena conferma dei risultati precedenti. Notiamo in particolare come l'effetto sia stato equivalente per il

detersivo commerciale e per il LAS; infatti, applicando il test di Student-Newmann-Keuls, si è visto come il numero medio di nauplii sia, in entrambi i casi, significativamente superiore ($P < 0,05$) rispetto ai controlli, ma non diverso per i due tipi di sostanza usata. Ancora una volta l'analisi complessiva dei dati (Tabella III) ha messo in rilievo la diversità della risposta ottenuta per i due livelli di affollamento.

TABELLA III.

Analisi della varianza fattoriale, per le tre serie di esperimenti.

Asterischi come in Tabella II.

Variazione	I serie		II serie		III serie	
	gl	QM	gl	QM	gl	QM
Affollamento . .	1	4344,0 ***	1	12483,3 ***	1	9144,9 ***
Detersivo	1	202,8 ns	2	90,4 ns	2	365,6 **
Interazione . . .	1	2066,7 ***	2	2276,7 ***	2	781,4 ***
Errore	116	81,7	174	83,9	174	56,8

In questi ultimi esperimenti si sono anche effettuate delle misure sistematiche di pH, prima di introdurre gli animali nelle capsule e poi ogni due giorni, per accertare se i risultati ottenuti non potessero essere legati a modificazioni del pH invece che ad una azione diretta dei detersivi. Questa possibilità va però esclusa poiché sia nei controlli sia con il detersivo commerciale, sia con il LAS, il pH si è sempre mantenuto tra 7,7 e 7,8, per entrambi i gradi di affollamento.

In tutte le serie di esperimenti, sia per il detersivo commerciale a 2 e a 4 mg/l che per il LAS a 0,8 mg/l, la sopravvivenza delle femmine usate è stata pari al 100 %. Ciò contrasta con quanto verificato in precedenza (Fava e Dalla Venezia, 1976), quando ad una concentrazione di 4 mg/l di prodotto commerciale la mortalità cumulativa, dopo sei giorni, risultò del 30 % circa. Tuttavia bisogna tener presente che anche se abbiamo usato il medesimo prodotto, non siamo in grado di sapere con sicurezza se e in che misura la sua composizione possa variare a distanza di qualche anno. Inoltre la resistenza assoluta a questo tipo di inquinante dipende molto probabilmente dalla qualità dell'acqua usata, che non possiamo controllare dal momento che per i nostri allevamenti utilizziamo acqua naturale prelevata mensilmente. Va anche tenuto presente che negli esperimenti descritti, la maggior parte delle femmine è stata tolta dall'acqua inquinata entro il quarto giorno.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'esame complessivo dei dati riferiti dimostra, in primo luogo, come vi sia una fortissima interazione tra affollamento ed inquinante, indicando chiaramente che l'effetto globale del detersivo sulla produzione di nauplii al massimo affollamento è l'opposto di quanto si verifica con una sola coppia per capsula. Ciò permette di escludere l'eventualità che i risultati ottenuti dipendano dalle proprietà battericide o batteriostatiche del LAS, dal momento che queste dovrebbero produrre lo stesso tipo di azione indipendentemente dall'affollamento di *Tisbe*; suggerisce invece che dipendano da un'azione diretta sugli animali. Il fenomeno osservato sembrerebbe comunque paradossale, dal momento che ci si attenderebbe eventualmente un danno maggiore quando gli animali subiscono contemporaneamente due azioni stressanti, una da parte del maggiore affollamento e l'altra da parte del composto chimico artificialmente introdotto nell'ambiente. Sembrerebbe, in altri termini, che in talune situazioni di stress la presenza del detersivo di questo tipo fosse di beneficio.

Tuttavia il paradosso può essere solo apparente e viene risolto ammettendo che il differente comportamento degli animali ai due livelli di affollamento sia dovuto all'azione di due meccanismi di natura diversa, pur essendo entrambi dipendenti dal detersivo. Appare pertanto preferibile discutere ora separatamente i risultati ottenuti con uno o con otto coppie per capsula.

Nel primo caso si è sempre ottenuta una diminuzione del numero medio di nauplii prodotto dal primo sacco ovigero, per le coppie mantenute in ambiente inquinato. Il fatto che questa diminuzione sia risultata significativa solo nei primi due esperimenti (e con differenti livelli di probabilità) induce a pensare che, o questo effetto dannoso non è molto rilevante oppure, e più verosimilmente, che l'entità del danno è condizionata da qualche caratteristica ambientale, per ora non identificabile. Per quanto riguarda il modo in cui l'inquinante agisce a questo livello, si possono formulare almeno due ipotesi, non necessariamente alternative. Da un lato, come è stato rilevato per altri organismi (Swedmark *et al.*, 1971) è possibile che i meccanismi che controllano gli scambi gassosi vengano più o meno danneggiati, con un deterioramento generale delle condizioni dell'organismo e, o, con un insufficiente apporto di ossigeno alle uova in sviluppo e conseguente diminuzione della fertilità. Dall'altro, il detersivo potrebbe danneggiare i gameti provocando una diminuzione della percentuale delle uova fecondate, come avviene in *Mytilus edulis* (Granmo, 1972). In questo animale, tuttavia, l'effetto a parità di concentrazione sembra essere molto più drastico, probabilmente perchè, diversamente da *Tisbe*, gli spermatozoi vengono emessi direttamente nell'acqua e quindi sono più facilmente attaccabili da eventuali inquinanti presenti.

Nel caso degli animali tenuti ad affollamento elevato, alla diminuzione dovuta alle possibili cause discusse sopra, si sovrapporrebbe un aumento del

numero di nauplii determinato da un'apparente « rimozione » che il detergente effettuerebbe a carico dell'affollamento. Cioè l'inquinante « rimuoverebbe » quei meccanismi che determinano negli animali la risposta all'affollamento che, nel nostro caso, è rappresentata da una notevole riduzione della fertilità come appare evidente dal confronto tra il numero di nauplii prodotto nei controlli, ad una o ad otto coppie per capsula.

In un precedente studio sugli effetti dell'affollamento (Fava e Crotti, in preparazione) è stata suggerita l'ipotesi che il meccanismo che permette agli animali di percepire e di reagire al livello di affollamento, si basi su sostanze specifiche complesse prodotte dagli stessi. Il modo di operare dell'inquinante, saggiato ad elevato affollamento, concorda bene con questa ipotesi. Infatti è possibile che il detergente interagisca con sostanze organiche prodotte dagli animali, e più ancora è possibile che questo impedisca agli animali di percepire la presenza, danneggiando i loro organi di senso e, particolarmente, i chemorecettori. Che i detersivi anionici danneggino gravemente, ed anche in concentrazioni non elevate, gli organi di senso è stato chiaramente dimostrato da Bardach *et al.* (1965). Disturbi alla risposta alla presenza del cibo (danno ai chemorecettori) sono stati trovati per due specie di crostacei da Swedmark *et al.* (1971). Pur essendoci pochi lavori su tale argomento, non sembra azzardato ritenere che il danneggiamento indotto da queste sostanze sugli organi di senso sia un fatto piuttosto generale.

Ovviamente, la diminuzione dell'effetto dell'affollamento causata dal detergente in *T. holothuriae* è ben lontana dal poter essere considerata un fatto positivo. Infatti la riduzione della fertilità con l'aumento dell'affollamento è un efficiente meccanismo a feed-back che permette alla popolazione di controllare le proprie dimensioni. L'inattivazione di tale meccanismo può portare ad esplosioni di popolazione, a successive drastiche morie e, più in generale, a notevoli scompensi nelle comunità in cui sono inseriti questi organismi; ciò principalmente per le forti interazioni che sembrano esistere tra le varie specie appartenenti al genere *Tisbe*, anche nell'ambiente naturale (Fava e Volkmann, 1975).

Sembra importante sottolineare come gli effetti descritti avvengano per concentrazioni relativamente modeste e comunque non tali da causare elevati tassi di mortalità negli individui saggiati. Inoltre, come già detto, queste non sono lontane dalle concentrazioni riscontrabili in natura. Per il momento non è però possibile sapere con sufficiente certezza, entro quali limiti i presenti risultati sperimentali siano estrapolabili all'ambiente naturale; tuttavia sembrano sufficienti per consigliare una certa cautela nell'immissione di queste sostanze nelle acque, dal momento che potrebbero causare un notevole disturbo nella complessa rete di segnali chimici che contribuisce a regolare l'esistenza delle comunità.

Infine, dobbiamo confrontare l'effetto del detergente commerciale con quello del dodecilbenzene sulfonato. Si è visto, nella terza serie di esperimenti, che non vi sono differenze significative né ad una né ad otto coppie per capsula. Sembra quindi che tutti gli effetti discussi siano da attribuire unicamente

al LAS. Tuttavia, tale conclusione potrà essere ritenuta definitiva solo dopo una successiva sperimentazione con miscele ricostruite in laboratorio, sulla base della composizione media dei prodotti commerciali, e con i singoli componenti.

BIBLIOGRAFIA

- BARDACH J. E., FUJIYA M. e HALL A. (1965) - *Detergents: effects on the chemical senses of the fish Ictalurus natalis (le Sueur)*. « Science », 148, 1605-1607.
- COSSA D. (1973) - *Évaluation de la pollution par les détergents anioniques en cinq zones du littoral français*. « Rev. Trav. Inst. Pêches marit. », 37, 429-469.
- FAVA G. e DALLA VENEZIA L. (1976) - *Effetti di un detersivo commerciale in copepodi del genere Tisbe (Copepoda, Harpacticoida)*. « Atti Ist. veneto Sci. », 134, 221-237.
- FAVA G. e VOLKMANN B. (1975) - *Tisbe (Copepoda: Harpacticoida) species from the lagoon of Venice. I. Seasonal fluctuations and ecology*. « Mar. Biol. », 30, 151-165.
- GRANMO Å. (1972) - *Development and growth of eggs and larvae of Mytilus edulis exposed to a linear dodecylbenzenesulphonate, LAS*. « Mar. Biol. », 15, 356-358.
- MAJORI L., RAUSA G., MORELLI M. L. e DIANA L. (1967) - *L'inquinamento delle acque del mare nell'Alto Adriatico. II. Ricerche chimiche*. « Archo Oceanogr. Limnol. », 15, suppl., 125-134.
- MAJORI L., MORELLI M. L., RAUSA G., DIANA L. e GASPARINI V. (1969 a) - *L'inquinamento delle acque del mare nell'Alto Adriatico. Nota II. Studio della zona compresa tra le foci del Po e Ravenna*. « L'Igiene Moderna », 62, 590-613.
- MAJORI L., RAUSA G., MORELLI M. L., DIANA L. e GASPARINI V. (1969 b) - *L'inquinamento delle acque del mare nell'Alto Adriatico. Nota III. Studio della laguna veneta e della zona di mare ad essa prospiciente*. « L'Igiene Moderna », 62, 715-749.
- SWEDMARK M., BRAATEN B., EMANUELSSON E. e GRANMO Å. (1971) - *Biological effects of surface active agents on marine animals*. « Mar. Biol. », 9, 183-201.